

黑骨藤中神经酰胺类化学成分

赵超, 甘秀海, 龚小见, 陈华国, 周欣*

(贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室;
贵州师范大学天然药物质量控制研究中心, 贵阳 550001)

[摘要] 目的:研究黑骨藤化学成分。方法:采用反复硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 柱色谱法等进行分离纯化,并通过理化常数测定和质谱、一维、二维核磁共振等波谱方法分析鉴定其化学结构。结果:从黑骨藤中分离鉴定了 2 个神经酰胺类化合物,分别为 1-*O*- β -*D*-葡萄糖-(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-3, 4-二醇(1), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-1, 3, 4-三醇(2)。结论:所有化合物均首次从黑骨藤中分离得到,采用二维核磁技术确定化合物 2 的结构,并对其二维谱数据进行归属。

[关键词] 黑骨藤; 化学成分; 神经酰胺

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0083-003

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230083

Ceramides of *Periploca forrestii*

ZHAO Chao, GAN Xiu-hai, GONG Xiao-jian, CHEN Hua-guo, ZHOU Xin*

(Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment, Guizhou Normal University; The Research Center for Quality Control of Natural Medicine, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To study chemical constituents of *Periploca forrestii*. **Method:** Many kinds of chromatographic methods were used in the isolation procedure, while the structures of compounds were elucidated by physical and chemical properties and MS, 1 D, 2 D NMR techniques. **Result:** Two known compounds were isolated from *P. forrestii*. Identified as 1-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-hydroxytetra cosanoylamino]-10-octadecene-3, 4-diol(1), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-hydroxytetra cosanoylamino]-10-octadecene-1, 3, 4-triol (2). **Conclusion:** Two compounds were all isolated from *P. forrestii* for the first time.

[Key words] *Periploca forrestii*; chemical constituents; ceramides

黑骨藤又名黑龙骨主要产于西藏、青海、四川、贵州、云南和广西等省区。植株有小毒,全株供药用,可舒筋活络、祛风除湿;治风湿性关节炎、跌打损伤、胃痛、消化不良、闭经、疟疾等^[1]。课题组前期对黑骨藤的化学成分、质量控制、生物活性等开展了

一系列研究^[2-11],化学成分研究中已经报道了 33 个化合物^[5,7-8,10],主要类型为黄酮、萜类等化合物。在后续研究中,作者又发现了 2 个神经酰胺类化学成分,分别鉴定为 1-*O*- β -*D*-葡萄糖-(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-

[收稿日期] 20140327(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360641);贵州省发展改革委黔发改高技项目[(2013)2068];贵州省教育厅特色重点实验室建设项目[黔科合 KY(2012)005 号];贵州省中药材现代产业技术体系建设专项(GZCYTX-02);贵阳市 2012 科技特派员计划项目[筑科合同(2012207)25 号]

[第一作者] 赵超,硕士,副研究员,从事天然产物化学成分研究,Tel: 0851-6690448,E-mail: chaozhao@126.com

[通讯作者] *周欣,博士,教授,从事中药化学及中药质量控制研究,Tel: 0851-6702167,E-mail: alicex9800@sina.com

3, 4-二醇(1)、(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-1, 3, 4-三醇(2)。

1 材料

INOVO 型 400 MHz 核磁共振波谱仪(美国 Varian 公司),以 TMS 为内标,5973 型质谱仪(美国惠普公司),Waters 2545 型制备高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),X-4 型双目镜显微熔点测定仪(未校正,北京泰克仪器有限公司),ZF₇ 型三用紫外分析仪(巩义市予华仪器有限责任公司)。D101 型大孔树脂(河北沧州宝恩),CHP-20 型 MCI(日本三菱公司),RP-8, RP-18 色谱柱(德国 Merck 公司),柱色谱硅胶(200 ~ 300 目)和薄层用硅胶 H,GF254(青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20(瑞士 Pharmacia 公司)。

药材于 2006 年 11 月采自贵州省贵阳市花溪区黔陶镇,经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为萝藦科植物黑龙骨 *Periploca forrestii* 的根或全株。

2 提取与分离

黑骨藤干燥药材 14 kg 粉碎后,用 80% 乙醇回流提取 3 次,每次 3 h,合并提取液,减压浓缩得到浸膏,以少量水分配,依次用三氯甲烷、正丁醇萃取,得到相应萃取物。萃取物在进行前述的研究工作后,再进行仔细研究,采用各种层析手段进行反复分离,分别在三氯甲烷部分发现化合物 1(210 mg),正丁醇部分发现化合物 2(68 mg)。

3 化合物 2 结构解析

白色粉末,mp138 ~ 139 °C,ESI-MS *m/z*: 680.5 [M - H]⁻。由¹H-NMR δ: 8.59(1H, d, *J* = 8.8 Hz, NH), 5.06(1H, m)及¹³C-NMR δ: 175.5, 52.9 可知该化合物具有酰胺键,另 δ: 76.8, 72.9, 72.5, 62.0 显示 4 个羟基碳信号,δ: 1.27 ~ 1.42(58H, m), 0.89(6H, t, *J* = 7.2 Hz)显示有两个脂肪烷基链,因此可推测该成分为神经酰胺类化合物。

在异核多量子相关谱(HMQC)中,130.9, 130.7 与 5.51(2H, m)相关,76.9 与 4.31(1H, m)相关,72.9 与 4.25(1H, m)相关,72.5 与 4.61(1H, m)相关,62.0 与 4.46, 4.40(each 1H, dd, *J* = 10.8, 4.8 Hz)相关,52.9 与 5.06(1H, m)相关,35.7, 33.9 与 1.27 ~ 1.42(58H, m)相关,33.4 与 2.15 ~ 2.26(m)相关,33.1 与 1.88 ~ 2.04(m)相关,32.2, 29.7 ~ 30.2, 26.8, 25.9 与 1.27 ~ 1.42(58H, m)相关,14.5 与 0.89(6H, t, *J* = 7.2 Hz)相关。

同核位移相关谱(¹H-¹HCOSY),异核多重键相

关谱(HMBC)(表 1)显示碱基链部分为 1, 3, 4-三羟基鞘氨醇,4.61(1H, m)与 δ: 175.5, 35.7, 25.9 有远程相关,表明酰基部分为 α-OH 脂肪酰链,由该成分的 1, 2, 3, 4, 2'位质子的化学位移和碳谱数据可知它们的绝对构型为 2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*, 双键质子信号 5.51(2H, m)与碳信号 33.4, 33.1 有远程相关,所以双键为 *E* 型,以上数据与文献[12]对照,鉴定该化合物为(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-1, 3, 4-三醇(图 1)。

表 1 化合物 2 的¹H-¹HCOSY, HMBC

NO.	δ H(J, Hz)	δ C	¹ H- ¹ HCOSY	HMBC
1	4.46(10.8, 4.8)	62.0		C-2, C-3
	4.40(10.8, 4.8)			
2	5.06(m)	52.9	H-3, NH	C-1, C-3, C-1'
3	4.31(m)	76.8	H-1, H-4	C-1, C-2, C-4, C-5
4	4.25(m)	72.9	H-3	C-5
5	1.88 ~ 2.04(m)	33.8		
6	1.27 ~ 1.42(m)	26.8		
8, 13	1.27 ~ 1.42(m)	32.3		
9	2.15 ~ 2.26(m)	33.1		C-10
10	5.51(m)	130.9		C-9
11	5.51(m)	130.7		C-13
12	2.15 ~ 2.26(m)	33.4		C-11
17, 23'x	1.27 ~ 1.42(m)	23.1		C-18, C-24'
18, 24'	0.89(t, 7.2)	14.5		
1'		175.5		
2'	4.61(m)	72.5		C-1', C-3', C-4'
3'	1.88 ~ 2.04(m)	35.7	H-2', 4'	C-2'
4'	1.27 ~ 1.42(m)	25.9		
NH	8.59(d, 8.8)		H-2	C-1'
(CH ₂) _n	1.27 ~ 1.42(m)	29.7 ~ 30.2		

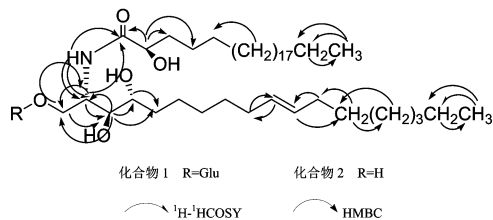


图 1 化合物 2 结构

4 结构鉴定

化合物 1 白色粉末,mp. 151 ~ 152 °C,ESI-MS *m/z* 842.5 [M - H]⁻, 866.5 [M + Na]⁺。¹H-NMR(400 MHz, pyridine-*d*₅) δ: 8.58(1H, d, *J* = 9.2

Hz, NH), 7.72, 6.68 6.68 (each 1H, br s, 3 × OH), 5.50 (2H, m, H-11, 12), 5.29 (1H, m, H-2), 4.94 (1H, d, $J = 7.6$ Hz H-1"), 4.57 (1H, m, H-2'), 4.70 和 4.50 (each 1H, m, H-1), 4.35 (1H, m, H-3), 4.28 (1H, m, H-4), 3.85 ~ 4.21 (5H, m, 糖上 H), 2.12 ~ 2.22 (3H, m), 1.91 ~ 2.04 (4H, m), 1.75 (3H, m), 1.21 ~ 1.29 (58H, m), 0.85 (6H, t, $J = 7.6$ Hz, H-18, 24'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 175.7 (C-1'), 130.9 (C-10), 130.7 (C-11), 105.6 (C-1"), 78.6 (C-5"), 78.4 (C-3"), 75.9 (C-3), 75.2 (C-2"), 72.4 (C-4), 72.4 (C-2'), 71.4 (C-4"), 70.5 (C-1), 62.6 (C-6"), 51.7 (C-2), 35.6 (C-3'), 33.9 (C-5), 33.4 (C-12), 33.0 (C-9), 32.2 (C-8), 32.1 (C-13), 29.6 ~ 30.1 (C-5' ~ 22' 和 C-14 ~ 16), 26.7 (C-6), 25.9 (C-4'), 23.0 (C-17, 23'), 14.3 (C-18, 24')。该化合物水解后经质谱检测含葡萄糖,其苷元部分与化合物 2 TLC 对照一致,参考文献[12-13]的数据,鉴定该化合物为 1-*O*- β -D-葡萄糖-(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-3, 4-二醇。

化合物 2 白色粉末, mp. 138 ~ 139 °C, ESI-MS m/z 680.5 [M - H]⁻, 704.5 [M + Na]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 8.59 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, NH), 7.65, 6.74, 6.74, 6.18 (each 1H, br s, 4 × OH), 5.51 (2H, m, H-11, 12), 5.06 (1H, m, H-2), 4.61 (1H, m, H-2'), 4.6 和 4.40 (each 1H, dd, $J = 10.8, 4.8$ Hz, H-1), 4.31 (1H, m, H-3), 4.25 (1H, m, H-4), 2.15 ~ 2.26 (3H, m), 1.88 ~ 2.04 (4H, m), 1.65 ~ 1.78 (3H, m), 1.27 ~ 1.42 (58H, m), 0.89 (6H, t, $J = 7.2$ Hz, H-18, 24'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 175.5 (C-1'), 130.9 (C-10), 130.7 (C-11), 76.8 (C-3), 72.9 (C-4), 72.5 (C-2'), 62.0 (C-1), 52.9 (C-2), 35.7 (C-3'), 33.9 (C-5), 33.4 (C-12), 33.1 (C-9), 32.2 (C-8, 13), 29.7 ~ 30.2 (C-5' ~ 22' 和 C-14 ~ 16), 26.8 (C-6), 25.9 (C-4'), 23.1 (C-17, 23'), 14.5 (C-18, 24')。以上数据与文献[12]对照,鉴定该化合物为 (2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-1, 3, 4-三醇。

5 结论

通过采用系统的植物化学分离、纯化手段,对黑骨藤的神经酰胺类化学成分进行系统研究,从中分

离鉴定了 2 个神经酰胺类化合物,分别为 1-*O*- β -D-葡萄糖-(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-3, 4-二醇、(2*S*, 3*S*, 4*R*, 10*E*)-2-[(2*R*)-2-羟基二十四烷酰氨基]-10-十八烷-1, 3, 4-三醇,这两个化合物均是首次从黑骨藤中分离得到。

[参考文献]

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志. 第 63 卷[M]. 北京:科学出版社,1977:275.
- [2] 陈华国,曹桂红,赵超,等. 黑骨藤药材中铅·镉·砷·汞·铜的含量及其质量标准评价[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(8): 4071.
- [3] 曹桂红,陈华国,周欣,等. 薄层扫描法测定不同产地黑骨藤中 β -香树酯醇[J]. 理化检验:化学分册, 2010, 46(10): 1179.
- [4] 陈华国,周欣,曹桂红,等. HPLC 测定黑骨藤中槲皮素-3-*O*- α -L-吡喃阿拉伯糖苷含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(10): 1284.
- [5] 周欣,甘秀海,龚小见,等. 黑骨藤中苷类化合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 610.
- [6] 曹桂红,陈华国,赵超,等. 黑骨藤药材薄层色谱检测方法研究[J]. 贵州师范大学学报:自然科学版, 2009, 27(4): 98.
- [7] 甘秀海,周欣,陈华国,等. 贵州苗药黑骨藤化学成分的研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(2): 160.
- [8] 甘秀海,周欣,陈华国,等. 黑骨藤中极性部位化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3225.
- [9] 甘秀海,周欣,陈华国,等. 黑骨藤不同提取物中重金属元素含量的测定[J]. 微量元素与健康研究, 2009, 26(5): 25.
- [10] 甘秀海,周欣,赵超,等. 黑骨藤化学成分的研究[J]. 中草药, 2009, 40(5): 708.
- [11] 周欣,胡晓娜,陈华国,等. 苗药黑骨藤不同提取方法提取物的 GC-MS 分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(12): 1495.
- [12] 占扎君,孙汉董,吴厚铭,等. 竹菌化学成分的研究(英文)[J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(2): 248.
- [13] Tang J, Meng X, Liu H, et al. Antimicrobial activity of sphingolipids isolated from the stems of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Molecules, 2010, 15(12): 9288.

[责任编辑 顾雪竹]